УДК: 619.616.24-002.153-053.2:636.22/.28

В.И. Паршина, В.Е. Абрамов
ФГОУ ВПО «Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии им. К.И. Скрябина», ФГУ ВГНКИ

ИЗУЧЕНИЕ МЕСТНО-РАЗДРАЖАЮЩЕГО, КОЖНО-РЕЗОРБТИВНОГО И АЛЛЕРГИЗИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ИНЪЕКЦИОННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ ЭНРОФЛОКСАЦИНА С КОЛИСТИНОМ

Необходимость использования комбинированных химиотерапевтических средств определяется двумя важнейшими задачами химиотерапии – уменьшением доз препаратов, а следовательно, затрат на лечение и возникновение нежелательных побочных эффектов, и снижением выработки устойчивости патогенной микрофлоры к антимикробным препаратам, что продлевает срок их использования в практике. Сочетанное применение антимикробных средств является одним из эффективных приемов, замедляющим этот процесс в микробных популяциях (В.Д. Соколов с соавт., 1992).

Изыскивая новые эффективные сочетания антимикробных средств, нельзя забывать о том, что новое сочетание из двух или более известных и изученных препаратов является новым лекарственным средством, с новыми, не всегда предсказуемыми превращениями в организме. Отсюда непременное условие – каждый новый комбинированный препарат, кроме апробации на эффективность, должен быть обязательно проверен на безвредность для организма, изучены его токсические свойства (В.Д. Соколов, 1997).

Задачей настоящего исследования являлось изучение раздражающего, кожно-резорбтивного действия и аллергизирующих свойств инъекционной лекарственной формы нового антибактериального препарата на основе энрофлоксацина и колистина.

Методы исследований

Изучение раздражающего действия препарата на кожу проведено на кроликах массой 2,2-2,4 кг при накожной аппликации с учетом функциональных и структурных изменений кожи: эритема, отек, трещины, изъязвления, изменений температуры. Раздражающее действие препарата при внутрикожном методе введения оценивали по интенсивности окрашивания тканей при внутривенном введении 1% раствора трипанового синего по 8-балльной системе. Определение раздражающего действия препарата на конъюнктиву глаз кроликов проводили визуальной оценкой в баллах.

Исследования по изучению кожно-резорбтивного действия препарата выполнены на белых мышах и крысах.

Аллергенность определяли с помощью конъюнктивальной и кожно-провокационной пробы (О.Л. Алексеева, Л.А. Дуева, 1978).

Результаты исследований

Изучение раздражающего действия на кожу проведено на 12 кроликах массой 2,2-2,4 кг. Количество животных в опытной и контрольной группах составляло по 6 особей. Исследуемый препарат наносили в чистом виде. Площадь нанесения составляла 80-82 см^2 (5% от общей поверхности тела животных). За два дня до эксперимента тщательно выстригали шерсть на спине, избегая механических повреждений кожных покровов. Лекарственное средство равномерно распределяли по поверхности участка в дозах от 20 до 100 мг/см^2 (соответственно 0,02-0,10 мл/см^2). Экспозиция – 4 часа, после чего кожу аккуратно протирали ватным тампоном, смоченным дистиллированной водой. Реакцию кожи на воздействие препарата оценивали через 1 и 16 часов после однократного нанесения.

Животным контрольной группы проводили аппликации лекарственной основы препарата.

Результаты опыта по изучению раздражающего действия на кожные покровы приведены в таблице 1.

Согласно полученным данным при однократной аппликации на кожные покровы кроликам при плотности нанесения от 0,020 до 0,10 мл/см^2 лекарственное средство не вызывает повреждения кожи в виде эритемы или отека.

Определение раздражающих свойств препарата при внутрикожном методе вве-

Таблица 1

Местно-раздражающее действие препарата при однократном воздействии на кожные покровы кроликов

Плотность нанесения, мл/см^2	Наблюдаемый эффект		Средний балл выраженности			
			эритемы		отека	
	группа 1	группа 2	группа 1	группа 2	группа 1	группа 2
0,020	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
0,037	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
0,074	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
0,100	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6

Таблица 2

Раздражающее действие препарата при внутрикожном методе введения

Время исследования	Кролик № 1		Кролик № 2	
	Оценка в баллах	Раздражающий эффект	Оценка в баллах	Раздражающий эффект
Исходное	0	отсутствует	0	отсутствует
Через 30 минут	4	слабый	4	слабый
Через 1 час	6	умеренный	6	умеренный
Через 3 часа	6	умеренный	6	умеренный
Через 4 часа	4	слабый	4	слабый
Через 5 часов	0	отсутствует	0	отсутствует

Таблица 3

Данные о клиническом состоянии организма кроликов

Время исследования	Кролик № 1			Кролик № 2		
	темпер.	пульс	дыхание	темпер.	пульс	дыхание
Исходное	38,8	128	56	38,9	129	54
Через 30 минут	38,6	126	54	38,7	129	59
Через 1 час	38,8	127	52	38,9	130	57
Через 2 часа	38,7	129	56	38,6	128	59
Через 3 часа	38,7	129	52	38,9	130	58
Через 4 часа	38,8	128	53	38,9	129	58
Через 5 часов	38,8	127	55	38,9	129	58
Через 6 часов	38,7	129	54	38,7	128	57

дения провели в опыте на 2 кроликах. Животных фиксировали в спинном положении; на животе выстригали шерстный покров. Выстриженный участок кожи делили на 6 полей площадью около 20 см^2. В центре 3 полей каждого кролика вводили лекарственное средство внутрикожно в объеме 0,1 см^3. Через 20 минут внутривенно вводили 1% раствор трипанового синего в дозе 1 см^3/кг массы тела кролика. Через 30, 60 и 180 минут после введения красителя исследовали окраску кожных зон в местах инъекции композиции.

В опыте установлено (табл. 2), что через 30 минут после введения отмечается слабое раздражающее действие, через 60 и 180 минут раздражающее действие препарата было умеренным, через 4 часа – слабым, а через 5 часов отсутствовало.

При изучении раздражающего действия лекарственного препарата на конъюнктиву кроликов установлено, что клиническое состояние кроликов остается в пределах показателей здоровых животных (табл. 3).

При визуальной оценке состояния конъюнктивы, роговицы и век глаз кроликов установлено, что препарат вызывает слабое раздражение конъюнктивы спустя 1 час после закапывания, которое самопроизвольно исчезает к 5-му часу (табл. 4).

Оценка кожно-резорбтивного действия неразведенного препарата на 40 белых мышах массой 20±2 г проведена с использованием «пробирочного метода». Время экспозиции – по 2 часа в сутки в течение 14 суток. Учет реакции проводили по гибели животных, изменению массы и температуры тела, изменению количества лейкоцитов и эритроцитов в перифе-

Таблица 4

Влияние препарата на глаз кролика

Время исследования	Кролик № 1		Кролик № 2	
	Оценка в баллах	Раздражающий эффект	Оценка в баллах	Раздражающий эффект
Исходное	0	отсутствует	0	отсутствует
Через 30 минут	0	отсутствует	0	отсутствует
Через 1 час	2	слабый	2	слабый
Через 2 часа	2	слабый	2	слабый
Через 3 часа	2	слабый	2	слабый
Через 4 часа	2	слабый	2	слабый
Через 5 часов	0	отсутствует	0	отсутствует
Через 6 часов	0	отсутствует	0	отсутствует

Таблица 5

Кожно-резорбтивное действие препарата на белых мышах

Исследуемые показатели	Время наблюдения (сутки)							
	Исходное		5		10		14	
	Группы животных							
	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль
Гибель животных, %	0	0	0	0	0	0	0	0
Масса, г	16,5 ± 0,42	16,9 ± 0,48	16,9 ± 0,53	17,0 ± 0,55	17,3 ± 0,45	17,4 ± 0,57	17,8 ± 0,37	17,8 ± 0,46
Температура, °С	38,1 ± 0,55	38,3 ± 0,61	38,2 ± 0,46	38,3 ± 0,39	38,4 ± 0,51	38,3 ± 0,49	38,4 ± 0,37	38,3 ± 0,41
Лейкоциты, х 10^9	7,9 ± 0,67	7,8 ± 0,55	8,1 ± 0,79	8,0 ± 0,60	7,9 ± 0,61	7,8 ± 0,76	8,0 ± 0,59	7,9 ± 0,47
Эритроциты, х 10^{12}	6,9 ± 0,43	6,8 ± 0,69	6,7 ± 0,51	6,9 ± 0,57	7,1 ± 0,48	7,0 ± 0,54	6,9 ± 0,76	6,8 ± 0,67

рической крови, общему состоянию и внешнему виду животных. Полученные данные (табл. 5) свидетельствуют о том, что лекарственный препарат не обладает кожно-резорбтивным эффектом. Органического повреждения хвоста животных опытной группы не выявлено.

При оценке кожно-резорбтивного действия препарата в опытах на 40 белых крысах массой 210±10 г лекарственное средство наносили на предварительно подготовленные участки кожи при плотности нанесения 50-60 мл/см² и экспозиции 2 часа. Продолжительность опыта составила 20 суток, кратность нанесения – 6 раз в неделю. Критериями кожно-резорбтивного действия препарата служили выживаемость животных, изменения их массы и температуры, показатели крови, внешний вид, поведение, изменения со стороны кожных покровов (табл. 6).

18-ти кратная аппликация препарата на кожные покровы крыс не вызывает гибели животных, не нарушает целостности кожи на месте нанесения, не влияет на клиническое состояние животных.

Изучение аллергизирующих свойств лекарственного средства проведено на 16 белых беспородных крысах массой 200-220 г. Число животных в каждой группе составляло по 8 особей.

Животным опытной группы на выстриженные участки кожи боковой поверхности тела наносили по 0,5 мл препарата на площадь 5 см² при плотности нанесения 0,1 мл /см² на протяжении 18 дней. Первое тестирование проводили путем нанесения препарата в дозе, в 5 раз превышающей сенсибилизирующую после 10 аппликаций, затем – через 14 и 20 суток от начала аппликации реакцию кожи учитывали по шкале оценки проб. Животным конт-

Таблица 6

Кожно-резорбтивное действие препарата на белых крысах

Исследуемые показатели	Время наблюдения (сутки)							
	исходное		5		10		20	
	Группы животных							
	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль	опыт	контроль
Гибель животных, %	0	0	0	0	0	0	0	0
Масса, г	202 ± 5,22	204 ± 5,31	204 ± 4,54	206 ± 4,52	206 ± 5,47	207 ± 6,15	200 ± 5,42	200 ± 5,62
Температура, °С	38,3 ± 0,22	38,0 ± 0,24	38,4 ± 0,23	38,2 ± 0,25	38,3 ± 0,21	38,1 ± 0,29	38,2 ± 0,20	38,3 ± 0,21
Лейкоциты, х 10^9	7,3 ± 0,46	7,2 ± 0,27	7,4 ± 0,34	7,5 ± 0,39	7,4 ± 0,38	7,5 ± 0,41	7,6 ± 0,32	7,5 ± 0,44
Эритроциты, х 10^{12}	6,9 ± 0,32	6,9 ± 0,34	7,0 ± 0,46	7,0 ± 0,45	7,2 ± 0,38	7,1 ± 0,44	7,1 ± 0,42	7,1 ± 0,37

Таблица 7

Показатели аллергизирующего действия препарата

Группа животных	Срок наблюдения, сутки	Наблюдаемые симптомы		
		гиперемия	отек кожи	десквамация
Контроль	10 сутки	0/8	0/8	0/8
	14 сутки	0/8	0/8	0/8
	21 сутки	0/8	0/8	0/8
Опыт	10 сутки	0/8	0/8	0/8
	14 сутки	0/8	0/8	0/8
	21 сутки	0/8	0/8	0/8

рольной группы применяли только разрешающие дозы.

Результаты опыта по изучению аллергизирующих свойств препарата представлены в таблице 7.

В эксперименте установлено, что 18-кратная аппликация препарата не вызывает явлений сенсибилизации.

Выводы

1. Инъекционная форма препарата на основе энрофлоксацина и колистина обладает слабовыраженным раздражающим действием на кожу и слизистые оболочки.

2. Препарат при длительном применении не обладает кожно-резорбтивным и аллергезирующим свойствами.

РЕЗЮМЕ

Изучены местно-раздражающее, кожно-резорбтивное и аллергизирующее действие инъекционной формы препарата энрофлоксацина с колистином на животных. Установлено слабовыраженное раздражающее действие лекарственного средства на кожу и слизистые оболочки и отсутствие кожно-резорбтивного и аллергезирующего свойств.

SUMMARY

The carried out research of local - irritant, skin - resorvent and allergic effect of injection form of drug induding enrofloxacin and colistin in animals. It has slight irritant effect on the skin and doesn't have any skin - resorvent and allergic properties.

Литература

1. Алексеева О.Г., Дуева Л.А. Аллергия к промышленным химическим соединениям. М.: Медицина, 1978. 271 с.
2. Гацура В.В. Методы первичного фармакологического исследования биологически активных веществ. М., Медицина, 1974. С. 81-83.
3. Соколов В.Д. Комбинированное применение антимикробных средств// Фармакология и токсикология новых лекарственных средств и кормовых добавок в ветеринарии. Л., 1990. С. 5-9.
4. Соколов В.Д. Ветеринарная фармакология. Учебник для вузов. М.: 1997. 148 с.